

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号
特開2003-55369
(P2003-55369A)

(43)公開日 平成15年2月26日(2003.2.26)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
C 0 7 D 311/58		C 0 7 D 311/58	4 B 0 1 8
A 6 1 K 31/352		A 6 1 K 31/352	4 C 0 6 2
A 6 1 P 37/08		A 6 1 P 37/08	4 C 0 8 6
// A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	B

審査請求 未請求 請求項の数6 O L (全 7 頁)

(21)出願番号	特願2001-238326(P2001-238326)	(71)出願人	899000057 学校法人 日本大学 東京都千代田区九段南四丁目8番24号
(22)出願日	平成13年8月6日(2001.8.6)	(72)発明者	北中 進 東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学 校法人日本大学内
		(72)発明者	大根谷 章浩 東京都千代田区九段南4丁目8番24号 学 校法人日本大学内
		(74)代理人	100079108 弁理士 稲葉 良幸 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規なフロログルシノール誘導体、及びこれを用いた組成物、抗アレルギー剤

(57)【要約】

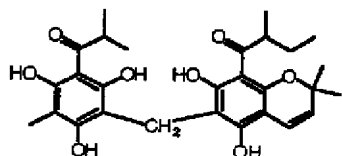
【課題】 クスノハガシワの果皮から抽出された抗アレルギー性に効果がある有効成分を提供すること。さらに、そのような有効成分を有する組成物、特に抗アレルギー剤を提供すること。

【解決手段】 本発明は、特定の構造（特許請求の範囲に示す化学式（1）及び（2）それぞれで示される新規なフロログルシノール誘導体を提供することにより、上記課題を解決したものである。また、本発明は、上記の新規なフロログルシノール誘導体を含有する組成物、特に抗アレルギー剤を提供することにより、上記課題を解決したものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記化学式(1)で示される新規なフロログルシノール誘導体。

【化1】



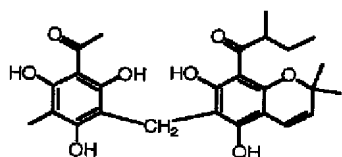
(1)

【請求項2】 請求項1記載のフロログルシノール誘導体を含有する組成物。

【請求項3】 抗アレルギー剤用である請求項2記載の組成物。

【請求項4】 下記化学式(2)で示される新規なフロログルシノール誘導体。

【化2】



(2)

【請求項5】 請求項4記載のフロログルシノール誘導体を含有する組成物。

【請求項6】 抗アレルギー剤用である請求項5記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、クスノハガシワ (*Mallotus philippensis*) の果皮の抽出物として単離される新規な化合物、及び該化合物を有効成分として含有する組成物、抗アレルギー剤に関する。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症などのアレルギー疾患が増え続けている。これらのアレルギー疾患は、主にI型アレルギー反応によるものであり、多量に生じた、アレルゲンに対する免疫グロブリンE抗体が、肥満細胞の表面でアレルゲンと結合することにより起こる化学伝達物質の遊離によって引き起こされることが知られている。

【0003】従来、これらのアレルギー疾患に対する治療剤として、クロモグリク酸ナトリウム、トラニスト、オキサトミド等が開発されているが、これらの薬剤は消化器系や中枢系に対して副作用を伴うことがある。また、近年社会問題になっているアトピー性皮膚炎は、何等かのアレルゲンに対するアレルギー反応の結果起こる

疾患で、未だに根本的な治療方法がないことから、上記の抗アレルギー剤を用いるか、炎症を抑えるために、ステロイド剤(副腎皮質ホルモン剤)が外用されている。しかしながら、ステロイド剤は副作用が大きいことが多く、慎重な適用が必要とされている。

【0004】ところで、本発明者等は、これまでに、トウダイグサ科に属する植物であるアカメガシワ (*Mallotus japonicus*) の果皮の抽出物(抽出エキス)から得られたフロログルシノール(phloroglucinol)誘導体には、マクロファージ様細胞における一酸化窒素(NO)産生抑制活性、炎症性サイトカイン(IL-6, TNF- α)産生抑制活性、更には、ラット腹腔マスト細胞からのヒスタミン遊離抑制活性を有することを見出し(日本薬学会第121年会講演要旨集2, 136(2001, 札幌)参照)、このフロログルシノール誘導体が抗アレルギー剤として有効であることの知見を得ている。尚、アカメガシワは、従来から、胃炎・胃潰瘍治療剤製造原料として用いられている。

【0005】一方、琉球以南の熱帯に生息する同属のクスノハガシワ(学名:*Mallotus philippensis*)の果皮表面のカマラ(kamala)と呼ばれる腺毛には、数種のフロログルシノール誘導体が存在することが知られている。具体的には、クスノハガシワの果皮の赤い腺毛は、古来、サナダムシ駆除に用い、メンマに似たフロログルシノール誘導体であるロットレリンを含んでいる。しかしながら、クスノハガシワが有する抗アレルギー性成分に対する解明については、十分に行われていないのが現状であった。

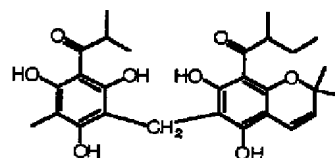
【0006】そこで、本発明は、クスノハガシワの果皮から抽出される抗アレルギー性に効果がある有効成分を提供することを課題とする。さらに、本発明の他の課題は、そのような有効成分を有する組成物、特に抗アレルギー剤を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記化学式(1)で示される新規なフロログルシノール誘導体を提供することにより、前記課題を解決したものである。

【0008】

【化3】



(1)

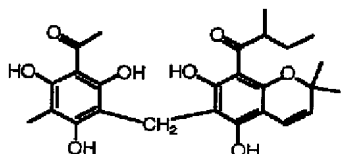
【0009】また、本発明は、前記フロログルシノール誘導体を含有する組成物、特に抗アレルギー剤を提供するものである。

【0010】本発明は、下記化学式(2)で示される新

規なフロログシノール誘導体を提供することにより、前記課題を解決したものである。

【0011】

【化4】



(2)

【0012】また、本発明は、前記フロログシノール誘導体を含む組成物、特に抗アレルギー剤を提供するものである。

【0013】

【発明の実施の形態】以下、本発明の新規なフロログシノール誘導体について詳細に説明する。本発明のフロログシノール誘導体は、前記化学式(1)又は(2)で示される構造の新規物質である。

【0014】本発明のフロログシノール誘導体は、クスノハガシワ (*Mallotus philippensis*) の果皮を乾燥又は未乾燥の状態に粗切り、水及び／又は有機溶媒を加えた後濃縮した抽出エキスの状態又はこれをクロマトグラフィや再結晶等により精製した結晶若しくは油状物質の状態を得られる。

【0015】クスノハガシワの果皮の抽出エキスは、上記の乾燥粉末を溶媒によって抽出し、抽出液から溶媒を減圧濃縮などにより除去して得ることが出来る。この溶媒としては、水、メタノール、エタノールなどのアルコール、アセトン、および、これらの混合物が使用できる。好ましくは、アルコールまたはアセトンが使用される。抽出溶媒の使用量は、クスノハガシワの果皮1重量部に対して、抽出溶媒として水及び／又は有機溶媒を5～20重量部とすることが好適である。抽出エキスは、必要により、さらに、カラムクロマトグラフィなどの常用の手段を用いて精製してもよい。

【0016】また、クスノハガシワの果皮を乾燥した後、粉碎して、乾燥粉末とすることもできる。この際、乾燥及び粉碎は常法によって行えばよい。乾燥は、熱を加えない自然乾燥が好ましい。粉碎の程度は、剤形に合わせて適宜選択される。

【0017】次に、本発明の組成物について詳細に説明する。本発明の組成物は、前述した前記化学式(1)又は(2)で示されるフロログシノール誘導体を有効成分として含むものである。本発明の組成物としては、特に抗アレルギー剤として用いることが好適である。以下、本発明の組成物が抗アレルギー剤である場合について説明する。

【0018】前記フロログシノール誘導体を含む本発明の抗アレルギー剤は、通常、従来の方法にしたがって

製剤化される。製剤化の際には、医薬用に使用されている種々の補助剤、すなわち、蒸留水、白色ワセリンなどの担体やその他の助剤、例えば、安定剤、防腐剤、乳化剤などを必要に応じて使用する。剤形の例としては、錠剤、散剤、顆粒剤、液剤、ローション、懸濁剤、クリーム、軟膏、噴霧液、入浴剤などがあり、これらの剤形は投与方法に合わせて適宜選択される。例えば、外用剤の場合、液剤、ローション、懸濁剤、クリーム、軟膏、噴霧液、入浴剤などの剤形が選択される。

【0019】本発明の抗アレルギー剤(製剤)への前記フロログシノール誘導体の配合量は、該誘導体を抽出エキスの状態で配合する場合、通常、1～30重量%、好ましくは2～15重量%であり、該誘導体を精製した物質として粉末状で配合する場合、通常、1～20重量%、好ましくは2～10重量%である。

【0020】本発明の抗アレルギー剤は、通常、経口、外用(局所)、吸入ないし通気、および、これらの組み合わせにより投与され、好ましくは、外用により投与される。投与量は、投与方法によって異なるが、例えば、局所投与の場合、乾燥粉末を5～15重量%含有する製剤を1日1回ないし数回塗布する。また、経口投与の場合、通常、成人で、乾燥粉末では0.3～0.5gを1日1回ないし数回投与する。

【0021】なお、上記の用量および用法は、患者の年齢、性別、症状および重傷度ならびに、他の薬剤の使用などの条件により変化するものであり、上記の範囲にとらわれることなく変更することが可能である。

【0022】本発明の抗アレルギー剤では、特に、慢性気管支炎、気管支喘息に対する治療効果が著しい。その効果は、肥満細胞を用いたヒスタミン遊離抑制試験によってヒスタミン遊離抑制活性が確認されており、また、インターフェロン- γ (IFN- γ) 及びリボポリサッカライド (LPS) 刺激によるマクロファージからの一酸化窒素産生抑制活性が確認されている。したがって、慢性気管支炎、気管支喘息に限らず、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症等の何れのアレルギー疾患にも適用できると期待される。

【0023】前述の新規なフロログシノール誘導体を有する本発明の組成物は、抗アレルギー剤として特に好適であるが、その他の医薬品、医薬部外品、化粧品、食品等として用いることができる。

【0024】

【実施例】以下、実施例を挙げて、本発明を更に詳細に説明する。しかしながら、本発明はこれらの実施例に何等限定されるものではない。

【0025】(実施例1) 種子島産のクスノハガシワ (*Mallotus philippensis*) の果皮をアセトンに3回浸して2.5Lの溶液とし、これを減圧下で濃縮して53.425gの抽出エキス(濃縮エキス)を得た。この濃縮エキス50.000gを70%アセトンに溶解し、

n-ヘキサン、酢酸エチル及びブタノールの各1Lで、順次3回ずつ抽出した。これらを減圧濃縮し、n-ヘキサン画分からは、48.191g、酢酸エチル画分からは、4.289g、ブタノール画分からは、764mgの濃縮エキスをそれぞれ得た。上記画分のうち、n-ヘキサン画分の濃縮エキス39.384gをセファデックスLH-20カラム(φ7.8×33cm)に付し、クロロホルム：メタノール=1：1の混合液で溶出していく、1～20Lの各画分からなる溶出液(A)を得た。

【0026】上記溶出液(A)のうち、6～10Lの溶出画分を集め、その減圧濃縮物(29.0440g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、φ6×28cm)に付し、n-ヘキサン：クロロホルム=70：30、50：50、20：80、0：100でそれぞれ溶出し、各画分からなる溶出液(B)を得た。

【0027】上記溶出液(B)のうち、クロロホルム：n-ヘキサン=50：50の溶出画分を集め、その減圧濃縮物(2.702g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、φ3×10cm)に付し、n-ヘキサン：クロロホルム=80：20、70：30、50：50、0：100でそれぞれ溶

出していく、n-ヘキサン：クロロホルム=70：30での溶出画分を集め、減圧下で濃縮したところ、結晶が析出した。この粗結晶をn-ヘキサンより再結晶させたところ、黄色結晶を得た(収量31.4mg)。この結晶は、表1のNMRによるスペクトル分析等により、化合物1であることが確認できた。尚、化合物1の物性については、表2に示す通りである。

【0028】(実施例2) 実施例1で得た溶出液(B)のうち、クロロホルム：n-ヘキサン=20：80の溶出画分を集め、その減圧濃縮物(8.437g)をシリカゲルカラム(Wako gel C-300、和光純薬社製、φ3×12cm)に付し、n-ヘキサン：クロロホルム=70：30、50：50、0：100でそれぞれ溶出していく、n-ヘキサン：クロロホルム=50：50での溶出画分を集め、減圧下で濃縮したところ、結晶が析出した。この粗結晶をn-ヘキサンより再結晶させたところ、黄色結晶を得た(収量68.7mg)。この結晶は、表1のNMRによるスペクトル分析等により、化合物2であることが確認できた。尚、化合物2の物性については、表2に示す通りである。

【0029】

【表1】

¹H NMR data of compound 1 and 2 (in CDCl₃, δ ppm, $J = \text{Hz}$)

Assigned protons	1	2
2-Me $\times 2$	1.47 (6H, s)	1.47 (6H, s)
aromatic Me	2.09 (3H, s)	2.08 (3H, s)
Ar-CH ₂ -Ar	3.78 (2H, s)	3.77 (2H, s)
3-H	5.44 (1H, d, $J=9.9$)	5.44 (1H, d, $J=9.9$)
4-H	6.65 (1H, d, $J=9.9$)	6.64 (1H, d, $J=9.9$)
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	3.78 (1H)	3.77 (1H)
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	1.17 (3H, d, $J=6.7$)	1.17 (3H, d, $J=6.7$)
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	1.85 (2H, m)	1.86 (2H, m)
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	0.92 (3H, t, $J=7.5$)	0.93 (3H, t, $J=7.5$)
Me (acetyl)		2.70 (3H, s)
-CH(CH ₃) ₂	3.94 (1H, m)	
-CH(CH ₃) ₂	1.19 (3H, d, $J=6.7$)	

Chemical shifts are given in δ values relative to TMS in a CDCl₃ a solution

¹³C NMR data of compound 1 and 2 (in CDCl₃, δ ppm)

Assigned carbons	1	2
2-Me $\times 2$	27.8 q	27.8 q
aromatic Me	7.5 q	7.5 q
Ar-CH ₂ -Ar	15.9 t	15.8 t
2-C	78.1 s	78.1 s
3-C	125.0 d	125.0 d
4-C	117.2 d	117.2 d
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	45.8 d	45.8 d
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	16.7 q	16.7 q
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	26.7 t	26.7 t
-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃	12.0 q	12.0 q
CO	210.9 s	210.9 s
	211.2 s	204.1 s
Me (acetyl)	32.6 q	
-CH(CH ₃) ₂	39.2 d	
-CH(CH ₃) ₂	19.3 q	
aromatic C, C-O	101.9 s 155.3 s	101.9 s 155.3 s
	103.1 s 155.3 s	103.4 s 155.6 s
	103.3 s 158.2 s	104.5 s 158.2 s
	103.4 s 160.2 s	105.0 s 159.6 s
	104.5 s 162.1 s	106.1 s 161.8 s
	106.3 s 162.2 s	106.2 s 162.1 s

Chemical shifts are given in δ values relative to TMS in a CDCl₃ a solution

性状	化合物1 黄色粉末	化合物2 黄色粉末
EI-MS (<i>m/z</i>)	498 (M) ⁺ 484, 469, 455, 441, 289, 275	470 (M) ⁺ 456, 441, 413, 289, 276, 195 182, 167
HR-EI-MS (<i>m/z</i>) 実測値	498.22510	470.19390
計算値	498.22535	470.19405
分子量	498	470
分子式	C ₂₈ H ₃₄ O ₈	C ₂₆ H ₃₀ O ₈
UV λ _{max} ^{MeOH} nm (log ε)	293 (4.42) 254 (4.80) 205 (4.38)	290 (4.47) 252 (4.01) 206 (4.45)
IR ν _{max} ^{KBr} cm ⁻¹	3276, 2969, 2932, 2873, 1609, 1465, 1426, 1382, 1364, 1278, 1132	3282, 2969, 2932, 2873, 1610, 1465, 1428, 1366, 1321, 1279, 1234

【0031】(実施例3)ヒスタミン遊離抑制効果
Compound 48/80刺激によるマスト細胞からヒスタミン遊離における、実施例1の化合物1及び実施例2の化合物2(新規なフロログルシノール誘導体)それぞれのヒスタミン遊離抑制効果としての阻害率を下記試験法に従って求めた。そして、この阻害率から、IC₅₀(ヒスタミンを50%抑制するときの濃度)(μg/mL)を求めることにより、ヒスタミン遊離抑制効果を評価した。

【0032】〔ヒスタミン遊離抑制効果試験法〕7~8週齢のWister系ラットを断頭後、放血させ、腹腔内に冷タイロッド液を注入し、公知の方法により肥満細胞を単離し、1~2×10⁶ cells/mLとなるように0.1%牛血清アルブミン(BSA)を含むタイロッド液に懸濁し、細胞浮遊液を調製した。各化合物の終濃度が3~30 μg/mLになるように試料溶液を調整し、試料溶液に上記細胞浮遊液を加えて37℃、5分間インキュベートを行い、脱顆粒誘発剤としてComp

ound 48/80を加え、37℃、10分間インキュベートを行う。これらの反応液は氷冷して反応停止、遠心分離した上澄に0.1N塩酸を加えた後、ヒスタミン量をOndaら(J. Med. Sci, 27, 93 (1978))の方法に準じて高速液体クロマトグラフィにより測定した。この結果から、阻害率を次式により算出した。

$$\text{阻害率}(\%) = \{1 - (A - B) / (C - B)\} \times 100$$

A: 単離化合物の存在下でcompound 48/80により遊離されるヒスタミン量

B: 自発的に遊離されるヒスタミン量

C: compound 48/80により遊離されるヒスタミン量

【0033】化合物1及び化合物2のヒスタミン遊離抑制効果としてのIC₅₀の結果を次に示す。尚、化合物1及び2の効果を一層明らかにするために、インドメタシンを比較例として用いた場合のIC₅₀の結果も併せて次に示す。

	IC ₅₀ (μg/mL)
化合物1(実施例1) ...	4.3
化合物2(実施例2) ...	6.5
インドメタシン(比較例) ...	89.45

【0034】(実施例4)一酸化窒素産生抑制効果
インターフェロン-γ(IFN-γ)及びリポポリサッカライド(LPS)刺激によるマクロファージからの一酸化窒素産生における実施例1の化合物1及び実施例2の化合物2の阻害効果(一酸化窒素産生抑制効果)を下記試験法に従って求めた。そして、この阻害効果から、IC₅₀(μg/mL)を求めることにより、ヒスタミン遊離抑制効果を評価した。

【0035】〔一酸化窒素産生抑制効果試験法〕RAW 264.7細胞を1~5×10⁵個/mLの濃度に調製

し、96穴プレート(住友ベークライト製、商品名「8096R」)に200 μLずつ分注し、1時間、CO₂インキュベーターにて細胞を接着させる。検体を投与後、LPS(O55:B5, Sigma) 2 μL, mouse IFN-γ(Genzyme) 2 μL、検体0.4 μLを加える。16時間、CO₂インキュベーターにて培養した。終濃度は、IFN-γ 0.33 ng/mL、LPS 100 ng/mLになるように調製した。また、検体は、DMSOに溶解し、培地に対する含量が0.2%になるように調製した。尚、Cell viab

ilityについては鏡検による観察とMTT法を行った。

【0036】・グリース法によるNO産生評価
培養上清を100 μ L採取し、0.1%ナフチルエチレンジアミン溶液50 μ L、スルファニルアミド溶液50 μ Lを加え、室温にて10分間放置した。分光光度計にて570nmのO.D.を測定する。STDには、亜硝酸ナトリウム溶液(100, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0 μ M)を用いた。試薬は、注射用水を用いて

溶解する。

【0037】・活性評価

NO₂-量を算出し、下記の式に当てはめて抑制効果を求めた。

$$\text{抑制効果 (\% of Inhibition)} = \{1 - (\text{Sample} - \text{Non}) / (\text{Control} - \text{Non})\} \times 100$$

【0038】化合物1及び化合物2の一酸化窒素産生抑制効果としてのIC₅₀の結果を次に示す。

		IC ₅₀ (μ g/mL)
化合物1 (実施例1)	...	1.49
化合物2 (実施例2)	...	1.31

【0039】

【発明の効果】本発明によれば、副作用の少ない、抗アレルギー物質としての新規なフロログルシノール誘導体

が提供される。さらに、本発明によれば、そのような新規なフロログルシノール誘導体を含む、優れた効果を有する組成物、特に抗アレルギー剤が提供される。

フロントページの続き

(72)発明者 香月 茂樹
鹿児島県熊毛郡中種子町野間17000

Fターム(参考) 4B018 MD07 MD61 ME07 MF01
4C062 FF13
4C086 AA01 AA02 AA03 BA08 MA01
MA04 NA14 ZB13